Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Bernhard Fischer).

Versuche über die Pathogenität der Tuberkelbacillentypen bei Mäusen und über die Gasissche Färbung.

UNIVERSITY LIBRARY
FEB 15 1913
STANFORD

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der hohen medizinischen Fakultät

der Königl. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Ernst Peters

aus Davos.

Kiel 1911.

Druck von H. Fiencke.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153521_0092

Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Bernhard Fischer).

Versuche über die Pathogenität der Tuberkelbacillentypen bei Mäusen und über die Gasissche Färbung.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der hohen medizinischen Fakultät

der Königl. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Ernst Peters

aus Davos.

Kiel 1911.

Druck von H. Fiencke.

No. 48.

Rektoratsjahr 1911/12.

Referent: **Fischer,**

Zum Druck genehmigt:

Heine,
z. Z. Dekan.

Meinen Eltern.

Die überaus große Literatur über Tuberkulose beweist einerseits, für wie wichtig die Erforschung der Tuberkulose gehalten wird, und andererseits auch, wie unendlich viele Einzelfragen in diesem großen Gebiet noch zu lösen sind.

So ist die Frage, wie sich der Erreger der Perlsucht des Rindes zum Erreger der menschlichen Tuberkulose verhält, von großer Wichtigkeit für die Verhütung der Tuberkulose. Sie hat infolgedessen eine große Anzahl von Arbeiten hervorgerufen, die indessen diese Frage immer noch nicht endgültig zu lösen vermochten.

Es stehen sich hier zwei Anschauungen gegenüber. Die eine, hauptsächlich von Behring und seinen Schülern vertretene, geht dahin, daß die beiden Typen artgleich sind, und dadurch auch die Möglichkeit einer Infektion des Menschen durch das Rind, d. h. hauptsächlich durch vom Rind stammende Nahrungsmittel, wie Milch und Butter, gegeben ist.

So sagt Behring: »Die Inhalation ist also nicht der Modus der Schwindsuchtsentstehung, sondern die Ansteckung erfolgt im Kindesalter vom Intestinaltraktus aus durch die Tuberkelbazillen der Tiermilch.«

Ein eifriger Verfechter dieser Ansicht von der Artgleichheit der Tuberkelbazillen ist Eber, der namentlich seine neueren Versuche zu Gunsten dieser Theorie anführt. — Eber impfte von Phtisikern stammende Tuberkelbazillen auf Rinder über. Die dadurch entstandenen Bauchfellknötchen wurden auf Meerschweinchen in mehrmaliger Passage verimpft. Schließlich wurden Milzstückchen der zuletzt infi-

zierten Meerschweinchen subkutan und intraperitoneal auf Rinder verimpft, die daraufhin an ausgebreiteter Tuberkulose der Lungen und des Bauchfelles eingingen. Eber glaubt damit die Möglichkeit der Typenumwandlung festgestellt und dadurch ein weiteres Beweismittel gefunden zu haben für seine schon früher geäußerte Ansicht, daß die menschliche Tuberkulose von der des Rindes nicht verschieden ist.

Dieser Anschauung von der Artgleichheit der Perlsucht- und Tuberkelbazillen sowie von der Schwindsuchtsentstehung durch den Genuß perlsuchtbazillenhaltiger Milch sind zahlreiche Autoren entgegengetreten, an ihrer Spitze der Altmeister der Tuberkuloselehre Robert Koch und seine zahlreichen Schüler. So hat C. Spengler auf Veranlassung von Koch bei Kindern Untersuchungen angestellt über die Tuberkuloselokalisationen und nicht nur gefunden, daß die Bronchialdrüsen die primären Herde zeigten, sondern auch festgestellt, daß die von ihnen auf- und absteigenden Drüsen und Lymphgänge nicht, oder nicht in dem Maße infiziert waren, daß die primäre Lokalisation in den Bronchialdrüsen irgendwie zweifelhaft sein konnte. Ferner erwiesen sich die Mesenterialdrüsen und der Darm als frei von Herden und Bazillen.

Weber machte umfangreiche statistische Erhebungen über die Wirkung des Genusses perlsuchtbazillenhaltiger Milch auf Säuglinge und kommt zu dem Resultat, daß perlsuchtbazillenhaltige Milch als Ursache menschlicher Tuberkulose kaum in Betracht kommt. Weber schließt daher seine Arbeit mit den Worten: »Die Gefahr, welche dem Menschen durch den Genuß von Milch und Milchprodukten eutertuberkulöser Kühe droht, ist im Vergleich zu der Gefahr, welche der mit offener Lungentuberkulose behaftete Mensch für seine Nebenmenschen bildet, nur sehr gering.«

Auch durch die von v. Baumgarten, Klemperer, C. Spengler an sich selbst vorgenommene Infektion mit Perlsuchtbazillen konnte dessen Apathogenität für den Menschen nachgewiesen werden. Es gelang ihnen nur, eine lokal bleibende Hauttuberkulose zu erzeugen, wie sie bei Schlachtern bekanntlich öfters beobachtet werden. Auch bei

diesen sind Allgemeininfektionen durch Perlsuchtbazillen bisher nicht einwandfrei nachgewiesen worden, wie denn auch der Schlächterberuf keinen größeren Prozentsatz an Tuberkulösen stellt wie andere Berufsarten.

Die beiden Typen sind ja auch nicht nur morphologisch und kulturell, sondern auch biologisch sehr wohl von einander zu trennen. In den »Vergleichenden Untersuchungen über Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft« von Kossel, Weber und Heuss findet man zahlreiche Unterscheidungsmerkmale zwischen Tuberkel- und Perlsuchtbazillen zusammengestellt.

Im mikroskopischen Bild erscheinen schon bei der gewöhnlich üblichen Färbung nach Ziehl-Neelsen die Perlsuchtbazillen viel plumper als die feinen dünneren Stäbchen des Tuberkelpilzes. Noch deutlicher tritt der Unterschied in der von C. Spengler angegebenen »Hüllenmethode« hervor (cf. zweiter Teil dieser Arbeit.)

In der Kultur wachsen auf der Glyzerinkartoffel die Perlsuchtbazillen als saftige höckerige Kolonien im Gegensatz zu den Bazillen des typus humanus, die den Nährboden als trockener, dünner, mehr ebener Belag überziehen. Deutlich ist auch der Unterschied auf Glyzerinbouillon zu beobachten.

Auch biologisch hat man versucht, die beiden Arten zu unterscheiden. Hier sind die Versuchsreihen von Bonome zu erwähnen, der in den verschiedenartigsten Variationen das Präzipitationsvermögen des Serums von tuberkulösen Menschen und Tieren geprüft hat. Bonome kommt zu dem Schluß, daß es durch die biologische Präzipitinmethode gelingt, einen wirklichen Unterschied zwischen den Tuberkelbazillen des Menschen und des Rindes festzustellen.

Schließlich kann auch der Tierversuch zur Differenzierung beider Typen herangezogen werden. Der Typus humanus bewirkt bei Meerschweinchen bei subkutaner Impfung Tod nach 6—8 Wochen, der typus bovinus dagegen schon nach 3—5 Wochen. Kaninchen sind widerstandsfähiger gegen menschliche Tuberkelbazillen: Subkutane Impfung ruft nur einen lokalen Abszeß hervor, während bei Impfung mit Perlsuchtbazillen die Tiere nach 8 Wochen an allgemeiner

Tuberkulose eingehen. Dieselben Verhältnisse findet man beim Rind. Hier bewirkt der typus humanus nur eine lokale Reaktion, während bei Infektion mit Perlsuchtbazillen die Rinder vom 10. Tage ab fiebern und nach 60—300 Tagen an allgemeiner Tuberkulose eingehen.

Vor kurzem hat Trommsdorff ein weiteres Tier zur experimentellen Differentialdiagnose zwischen typus humanus und bovinus herangezogen: die Maus.

Die Literatur über Tuberkulose bei Mäusen ist bisher nur klein. Zwar hat schon Robert Koch in seiner grundlegenden Arbeit über die Ätiologie der Tuberkulose, über subkutane und intraperitoneale Impfungsversuche mit Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft bei Mäusen berichtet, aber er kam nicht zu einem greifbaren Resultat, er konstatierte vielmehr nur, daß Mäuse für Tuberkulose viel weniger empfänglich seien als Meerschweinchen und Kaninchen. Zu demselben Resultat kam auch Straus auf Grund seiner subkutanen Impfungsversuche. Fränkel und Baumann erzielten ein anderes Ergebnis. Sie fanden, daß Mäuse für eine Infektion mit Tuberkelbazillen bei subkutaner und intraperitonealer Impfung viel empfänglicher sind, als man allgemeinhin annimmt. Andererseits fanden sie, daß die Empfänglichkeit großen individuellen Schwankungen unterworfen ist.

Ferner hat Körner Menschen- und Rindertuberkelbazillen subkutan und intraperitoneal auf Mäuse verimpft. Auch er bestätigte die Angaben Kochs von dem sehr langsamen Verlauf der Tuberkulose bei Mäusen.

Schließlich hat in neuester Zeit Yamada mit Tuberkelbazillen an Mäusen experimentiert und gefunden, daß diese Tiere sich gegen subkutane Injektion von 1 mg sehr wenig empfänglich zeigen, während dieselbe Menge, intraperitoneal injiziert, zum exitus führt. Er vermißte hierbei die typische Riesenzellenbildung in den kranken Organen, von denen er die Leber stärker affiziert fand wie Lungen, Milz und Lymphdrüsen.

Trommsdorf hat nun ebenfalls versucht, die Maus als Tuberkulose-Versuchstier mit heranzuziehen und zwar

analog den Kaninchen- und Meerschweinchenversuchen zur Differenzierung zwischen typus humanus und typus bovinus, aber nicht vermittels subkutaner oder intraperitonealer Injektion, wie die früheren Autoren, sondern — und dies ist das Neue an seinen Versuchen — vermittels der intravenösen Injektion.

An und für sich bestehen ja schwerwiegende Bedenken gegen die intravenöse Injektion zu differenzialdiagnostischen Zwecken, da wie Weber betont, hierbei die Gift- und Fremdkörperwirkung zu sehr zum Ausdruck kommt. Andererseits hat sie aber gegenüber der subkutanen den Vorzug, daß sie rascher zum Ziele führt.

Die Technik der intravenösen Injektion bei Mäusen, die am besten in die Schwanzvene vorgenommen wird, ist in der Trommsdorf'schen Arbeit ausführlich beschrieben. Ich kann mich der dort geäußerten Ansicht nur anschließen, daß die Erlernung dieser Technik durch Einspritzen von physiologischer Kochsalzlösung bei einigen Dutzend Mäusen keine ernstlichen Schwierigkeiten macht und daß Mißerfolge selten sind, wenn die Maus sachgemäß ruhig gehalten wird und für scharfe Kanülen und glatt laufende Spritzen gesorgt ist.

Was nun die Versuche selbst anbetrifft, so hat Trommsdorff zwei Parallelserien von Versuchen mit Rinder- und Menschentuberkelbazillen verschiedenen Ursprungs in genau dosierten Mengen angesetzt.

Bei der ersten Serie wurden zwei Mäuse mit 1 mg Rinder- bezw. Menschentuberkelbazillen geimpft. Die mit Rindertuberkelbazillen gespritzten Tiere starben nach 4 Wochen, während die mit Menschentuberkelbazillen infizierten und nach derselben Zeit getöteten Tiere bei der Sektion nur geringe tuberkulöse Veränderungen aufwiesen.

Bei der zweiten Serie wurde analog der ersten vorgegangen, aber mit abgestuften Dosen von 1 mg bis $^1/_{1000}$ mg. Das Ergebnis entsprach dem der ersten Versuchsreihe, nur war der Befund im allgemeinen bei den mit kleineren Dosen infizierten Tieren natürlich auch entsprechend geringer. Überall aber zeigte sich die größere Pathogenität der

Perlsuchtbazillen gegenüber den Menschentuberkelbazillen. Trommsdorff meint daher, daß man die intravenöse Injektion von 1 mg bezw. $^1/_{10}$ mg bei der Maus zur schnelleren Differenzialdiagnose der beiden Typen des Warmblütertuberkelbazillus mit heranziehen könnte.

Durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Geheimrat Prof. Dr. Fischer erhielt ich Gelegenheit, unter dessen Leitung im hygienischen Institut in Kiel diese Versuche nachzuprüfen.

Ich beschränkte mich hierbei auf die Einheitsdosis von 1 mg in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmter und in einem Achatmörser gut verriebener Kultur, da es mir nicht darauf ankam, die Wirkung verschieden großer Dosen einer Kultur zu studieren, ich vielmehr nur prüfen wollte, ob eine bestimmte Dosis einer Perlsuchtbazillenkultur sich in ihrer Wirkung anders verhielte wie eine gleiche Dosis einer Menschentuberkelbazillenkultur. Für die Identifizierung einer fraglichen Kultur ist dies ja ausreichend.

Andererseits wurden mit dieser Einheitsdosis von 1 mg nicht nur eine Maus, sondern eine Serie von vier Mäusen geimpft, da nach den Erfahrungen von Fränkel und Baumann wesentliche Unterschiede in der Empfindlichkeit der einzelnen Tiere bestehen sollten, was aber durch meine Versuche nicht bestätigt werden konnte, wie sich aus dem Folgenden ergibt. Auch Trommsdorff hat mit jeder Dosis je vier Mäuse infiziert und ziemlich gleichmäßige Resultate erzielt, sodaß die Maus doch wohl als ziemlich zuverlässiges Versuchstier für intravenöse Injektion von Tuberkelbazillen bezeichnet werden kann.

Die angesetzten Versuchsreihen waren folgende:

Von Kultur I (typus bovinus) wurden je 1 mg 4 Mäusen intravenös injiziert, davon starb Maus 1 nach 37 Tagen, 2 nach 32, 3 nach 42 und 4 nach 38 Tagen. Der makroskopische Befund war bei allen ziemlich gleichmäßig: In den Lungen sehr zahlreiche verkäste, teilweise konfluierte Tuberkel, die Milz war stark vergrößert, weich, mit massenhaften kleinsten Tuberkeln durchsetzt.

Von Kultur II (typus bovinus) wurden mit je 1 mg 3 Mäuse infiziert. Alle 3 gingen spontan nach 4, 4½ und 7 Wochen ein. Der Sektionsbefund war dem der ersten Serie entsprechend.

Analog diesen beiden bovinen Kulturen wurden auch zwei Kulturen humanen Ursprungs verwandt:

Von Kultur III (typus humanus) wurde je 1 mg drei Mäusen intravenös injiziert. Davon wurde eine nach 8, zwei nach 9 Wochen getötet. Bei der Sektion wurden in den Lungen, ebenso in der Milz, weniger in der Leber, vereinzelte Tuberkel gefunden.

Mit Kultur IV (typus humanus) wurden in derselben Weise vier Mäuse infiziert, die alle nach 9 Wochen getötet wurden. Der makroskopische Befund entsprach im allgemeinen dem der dritten Serie, doch waren die Tuberkel in der Lunge etwas zahlreicher, die infiltrierten Partien etwas größer. Leber und Milz zeigten keine nennenswerten Unterschiede gegen die Befunde der dritten Serie.

Von allen Tieren wurden Lungen, Leber und Milz mikroskopisch in Schnitten untersucht. Auch hier zeigten sich wesentliche Unterschiede zwischen der 1. und 2. Serie einerseits und der 3. und 4. Serie andererseits, entsprechend dem schon oben geschilderten makroskopischen Befund. Bei Serie 3 und 4 zeigte sich in den Lungen mäßig starke Tuberkelbildung ohne Verkäsung. Größere Partien der Lungen waren überhaupt frei von pathologischen Veränderungen. In Milz und Leber fanden sich nur vereinzelte nicht verkäste Tuberkel. Ganz anders war das Bild bei den Tieren der Serien 1 und 2: Tuberkel in viel größerer Anzahl, vielfach verkäst, teilweise zu größeren Herden konfluiert, hauptsächlich in den Lungen, weniger in Leber und Milz. Auch der Tuberkelbazillenbefund zeigte bemerkenswerte Unterschiede. Während er sich bei den Tieren der Serie 3 und 4 entsprechend dem histologischen Befund in mäßigen Grenzen hielt, waren in den Organen der mit Rindertuberkelbazillen geimpften Tiere der Serie 1 und 2, namentlich in den Lungen sehr große Mengen von Tuberkelbazillen vorhanden, sodaß die Lungen wirklich, um einen

Ausdruck von Trommsdorff zu gebrauchen, »vollgepfropft« mit Bazillen erschienen.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen bestätigt also die Angaben Trommsdorffs. Es zeigte sich aufs deutlichste, daß die zwei Stämme des typus bovinus erheblich virulenter für Mäuse waren, wie die beiden Stämme des typus humanus. Die mit 1 mg Rindertuberkelbazillen geimpften Mäuse starben alle spätestens 7 Wochen nach der Injektion an einer ausgebreiteten Tuberkulose der Lungen, Leber und Milz. Überall waren Tuberkelbazillen in großen Mengen nachweisbar. Hingegen zeigten die mit Menschentuberkelbazillen geimpften Tiere nach 8–9 Wochen nur geringe Veränderungen in den Lungen, während Leber und Milz fast ganz frei von tuberkulösen Veränderungen waren. Dementsprechend war auch die Menge der Tuberkelbazillen in den Organen gering. Keines von diesen Tieren war spontan eingegangen.

Wir haben also durch intravenöse Einverleibung von 1 mg einer fraglichen Tuberkelbazillenkultur in die Schwanzvene einer Maus ein weiteres Mittel zur Differenzialdiagnose zwischen typus humanus und typus bovinus, das auf Grund der oben beschriebenen Versuche wohl als ziemlich zuverlässig bezeichnet werden kann und — was als weiterer Vorteil gegenüber den subkutanen Impfungen angesehen werden darf — innerhalb 8 Wochen zum Resultat führt.

Auch scheint aus diesen Versuchen hervorzugehen, daß die weiße Maus doch wohl ein ziemlich zuverlässiges Versuchstier für intravenöse Injektion von Tuberkelbazillen ist. Denn von den zehn mit der gleichen Dosis Rindertuberkelbazillen geimpften Tieren starben neun innerhalb 4–6 Wochen nach der Injektion. Nur eine starb erst nach 7 Wochen; andererseits erwiesen auch die nach 8 Wochen getöteten, mit derselben Dosis Menschentuberkelbazillen geimpften Mäuse annähernd gleich starke pathologische Veränderungen auf. Der Zeitenunterschied von 14 Tagen, in dem die Tiere der 1. und 2. Serie starben, liegt wohl innerhalb der zulässigen Fehlergrenze.

Durch dieses neue Mittel zur Differenzialdiagnose zwischen typus humanus und typus bovinus sind die übrigen älteren, oben beschriebenen Methoden natürlich nicht überflüssig geworden. Es soll vielmehr nur eine Ergänzung dieser sein und man wird sich stets an die Mahnung Webers halten müssen, daß es nicht angängig ist, auf Grund eines einzigen Unterscheidungsmerkmales die Diagnose typus humanus oder bovinus zu stellen.

Eine andere Frage in dem großen Thema Tuberkulose, die namentlich in den letzten Jahren Gegenstand sehr zahlreicher Untersuchungen gewesen ist, ist die des färberischen Nachweises der Tuberkelbazillen.

Bald nach der Entdeckung des Tuberkelbazillus durch Robert Koch bemerkte man, daß der Nachweis der Tuberkelbazillen nicht überall da gelang, wo durch Tierexperimente die Diagnose Tuberkulose sichergestellt war oder der klinische Befund zu dieser Annahme zwang. Dieser Übelstand war einerseits darauf zurückzuführen, daß die Zahl der Tuberkelbazillen in den zu untersuchenden Se- und Exkreten sehr oft nur gering und es deshalb sehr vom Zufall abhängig ist, ob man gerade in dem auf dem Objektträger ausgestrichenen kleinen Partikelchen solche findet.

Man versuchte deshalb die Methodik der mikroskopischen Untersuchung durch sogenannte Anreicherungsverfahren zu verbessern, von denen die älteren (Biedert-Mühlhäuser-Czaplewski, van Ketel, Sachs-Mücke, C. Spengler, Hammerl, Dahme) wohl nur noch historischen Wert haben, nachdem die neueren Verfahren nach Ulenhuth und nach Ellermann-Erlandsen mit ihren Abänderungen veröffentlicht worden sind. Ferner suchte man durch Verbesserung der Färbetechnik bessere Resultate zu erzielen, indem man von der Vermutung ausging, daß mit den früher und auch jetzt noch sehr vielfach gebräuchlichen Methoden nach Ehrlich, sowie Ziehl-Neelsen, einschließlich der Modifikationen von Fränkel-Gabbet, nicht alle vorhandenen Tuberkelbazillen gefärbt wurden. Der Umstand, daß die Tuberkelbazillen ein- und desselben Präparates bei

diesen Färbungen teils besser, teils weniger gut tingiert erschienen, mußte in dieser Vermutung bestärken.

So entstanden eine ganze Anzahl neuer Färbemethoden. Von den älteren sind zu erwähnen die Methode von Nastinkow und Pewsner, die mit einem in ½ ‰ Sublimat gelösten Anilinfarbstoff färben und mit ½ ‰ Sublimat-Eosinlösung gegenfärben. Ogawa tingiert die Tuberkelbazillen statt mit Karbolfuchsin mit einer Mischung von Fuchsin mit Kreosot, Kampfer-Menthol-Terpentinwasser, Dorset mit Sudan III. Zur Entfärbung benutzten Rondelli und Buscalioni Eau de javelle, Andrejew ein Gemisch aus heißer 10% Kali-chloricum-Lösung, Säuregrün und 95% reiner Schwefelsäure. Andere Autoren versuchten zur Entfärbung Säuren zu vermeiden. So gibt Peltrisot das Aceton als Entfärbungsmittel an, während Adolf Müller alkalische Wasserstoffsuperoxydlösung benutzt.

Mehrere Methoden zur Tuberkelbazillenfärbung hat C. Spengler angegeben. Er benutzt jene schon oben erwähnte Hüllenmethode zur Differenzierung von Bazillen des typus humanus und bovinus: Nach vitaler Vorfärbung mit 1% Kalilauge und Methylenblau wird unter ganz gelinder Flammenerwärmung mit Karbolfuchsin gefärbt. Nachgefärbt wird sodann mit Methylenblaulösung, der einige Tropfen 15% Salpetersäure zugegeben werden Zum Nachweis von Tuberkelbazillen in allen tuberkulösen Se- und Exkreten benutzte er seine Pikrinmethode, bei der nach dem Karbolfuchsin noch Pikrinsäure in in 50% Alkohol gesättigter Lösung als Beize verwandt wird. Durch diese Methode sollen, wie auch andere Autoren bestätigen, wesentlich bessere Resultate erzielt werden können, als mit den althergebrachten nach Ziehl etc. Schon früher hatte Tarchetti die Pikrinsäure in konzentrierter alkoholischer Lösung zur Entfärbung und zugleich Nachfärbung empfohlen. Weiterhin sind auch Methoden zur besseren Strukturfärbung angegeben worden. Hierher gehören die b-Tolin- sowie die Dalia-Färbung von Betegh, ferner die Karbolfuchsin-Jod-Methode von Kronberger.

Von Interesse sind wegen der zahlreichen direkt und

indirekt durch sie veranlaßten Arbeiten die Veröffentlichungen Muchs und seiner Anhänger über die granuläre, nicht säurefeste Form des Tuberkelbazillus, dessen Existenz jedoch von vielen Seiten bezweifelt wird. So wird behauptet, daß bei geeigneter Färbung jeder Tuberkelbazillus ohne Ausnahme eine granuläre Form zeigt. In der Tat bekommt man mit der oben erwähnten, ebenso hübschen wie einfachen Strukturfärbung nach Kronberger nur granulierte Stäbchen sowie einzelne und in Häufchen liegende Körnchen zu sehen. Liebermeister zieht einen Vergleich mit den Diphtheriebazillen, bei denen es keinem Menschen einfällt, die Polkörnchen als besondere Form des Diphtheriebazillus anzusehen. Er meint daher, daß man auch nicht von einer eigenen granulären Form des Tuberkelbazillus reden könne. Aronson hat Untersuchungen über die chemischen Eigenschaften der Tuberkelbazillen angestellt und im Gegensatz zur Muchschen Schule gefunden, daß die Hülle der Bazillen aus echtem Wachs, die granuläre Substanz aus einer Fettsubstanz besteht und sagt dann wörtlich: »Nachdem ich gezeigt habe, daß die Gramfärbung der Tuberkelbazillen auf einer mit Trichloraethylen extrahierbaren Fettsubstanz beruht, ist die These der Hamburger Schule (Much, Weiß, Deyke), daß es sich hier um eine besondere Form des Tuberkulosevirus handelt, meiner Ansicht nach hinfällig.« Zahlreiche Autoren machen der Methode den Vorwurf, daß sie nicht spezifisch ist, und halten sie wegen der Möglichkeit von Verwechselungen mit Kokken, Niederschlägen etc. für die Praxis für ungeeignet.

Mehrere Autoren haben versucht, die alte Ziehlfärbung mit dieser neuerdings von Much angegebenen modifizierten Gramfärbung zu vereinigen. So haben Weiß und Hatano über gute Resultate mit einer kombinierten Ziehl-Grammethode berichtet. Auch die oben erwähnte Strukturfärbung von Kronberger gehört hierher, da bei der Gramfärbung ja die Jodierung das Wesentliche ist. Auch Rosenblat kommt auf Grund von im Kolleschen Institut in Bern gemachten Untersuchungen dazu, die Doppelfärbung Gram-

Ziehl zu empfehlen unter Ablehnung des Much schen Standpunktes.

Dasselbe Ziel, eine bessere Tuberkelbazillenfärbung zu finden, hat vor einiger Zeit Gasis auf neuem Wege zu erreichen gesucht. Er machte die Entdeckung, daß Tuberkelbazillen nicht nur säure-, sondern auch alkali-fest seien und begründete darauf eine ganz neue Färbemethode, der er viele Vorteile gegenüber den bisher üblichen Verfahren nachrühmt.

Er behauptet auf Grund hiermit gemachter Studien:

1. daß die Alkalifestigkeit die wichtigste und alleinige spezifische Eigenschaft der Tuberkelbazillen ist, die bei allen Formen, Jugend- resp. degenerierten Formen, konstant ist. Im Gegensatz dazu ist die Alkohol- resp. Säurefestigkeit, die schon als spezifische Eigenschaft der Tuberkelbazillen beschrieben wurde, nur bei einigen von ihnen vorhanden, und ferner auch bei anderen pathogenen und nicht pathogenen Bakterien nachzuweisen.
2. Die Smegmabazillen sind z. T. säure- resp. alkoholfest, aber nie alkalifest.
3. Konstatiert er bei seiner Färbung große Unterschiede in den Größenverhältnissen der Bakterien. Er unterscheidet drei Klassen, die kleinen, mittelgroßen und ganz großen, die die Kleinen an Größe um das 3—4fache übertreffen. Er will diese letztere als reife Form gegenüber den in dem Entwicklungsstadium begriffenen kleinen Bazillen aufgefaßt wissen. Auch sollen die Feinheiten der Struktur sehr gut zur Darstellung kommen.

Die in seiner ersten Veröffentlichung angegebene Färbemethode ist folgende: 1 gr Eosin wird mit etwas Quecksilberchlorid in 95 ccm Aqua dest., dem 5 ccm Alkohol absol. zugegeben werden, durch Aufkochen gelöst. Es entsteht eine schön rote, undurchsichtige, in Schwebefällung befindliche Farblösung, mit der das Präparat sofort übergossen wird. Entfärbt wird mit einer Lösung von 2,0

Kaliumjodit und 0,5 Natriumhydrat in 100 ccm 50% Alkohol. Schließlich wird nachgefärbt mit einer Lösung von 1 gr Methylenblau in 80 ccm Wasser, der 0,5 ccm konzentrierte Salzsäure und 20 ccm Alkohol absol. zugegeben werden.

Verfasser versuchte nun den Wert dieser Methode für die Praxis nachzuprüfen. Hierbei ist zunächst zu bemerken, daß zur Herstellung der jedesmal frisch zuzubereitenden Eosinlösung stets einige Minuten beansprucht werden. Sobald diese nämlich nur kurze Zeit steht, bildet sich am Boden und an den Seitenwänden des Reagensglases ein schmieriger Niederschlag und die Lösung ist unbrauchbar. Diesem Übelstand hat Gasis durch eine in einer späteren Arbeit veröffentlichte Modifikation der Färbung abzuhelfen versucht, die aber nun ihrerseits den Fehler hat, daß sie wesentlich schlechtere, unklare, mit Niederschlägen durchsetzte Bilder liefert. Auch andere Autoren, z. B. Rosenblat, sind zu demselben Ergebnis gekommen. Verfasser zog es deswegen vor, bei seinen Färbungen die ursprüngliche Methode zu verwenden.

Es wurden von den im Untersuchungsamt des Königl. Hygienischen Instituts einlaufenden Sputum- und Urinproben, die in allen Fällen mit Antiformin-Ligroin angereichert werden, mehrere Präparate sowohl nach Ziehl wie nach Gasis gefärbt. 120 Sputa wurden so einer vergleichenden Untersuchung unterzogen. Es zeigte sich hierbei zunächst ein kleiner Vorteil der Gasisschen Methode. Während nämlich bei Anwendung der Antiformin-Ligroin-Anreicherung die Präparate zur Ziehlfärbung mit Karboleiweißlösung auf dem Objektträger fixiert werden müssen, ist dies bei der neuen Methode nicht nötig. Grobe Behandlung der Ausstriche beim Abspülen wurde allerdings vermieden.

Was aber nun die eigentlichen Resultate der Färbung angeht, so konnte Verfasser sich, in den Sputumpräparaten wenigstens, von einem Vorteil der Methode nicht überzeugen. In sämtlichen Ziehl-positiven Präparaten wurden auch nach Gasis rote Stäbchen in annähernd der gleichen Menge gefunden. In den Sputis aber, in denen nach Ziehl keine Tuberkelbazillen nachweisbar waren, gelang es auch nach

Gasis nicht, solche zu finden, obwohl durch diese Färbung in der Tat, wie auch Gasis betont, sehr klare Bilder erzeugt werden, die Bazillen leuchtend rot hervortreten und nicht leicht übersehen werden können.

Was nun den zweiten Vorteil anbetrifft, den Gasis hervorhebt, nämlich den der besseren Darstellung der Größen- und Strukturverhältnisse der Bakterien, so scheint dies in der Tat der Fall zu sein. Jedoch muß hervorgehoben werden, daß dies nichts Neues ist. Vielmehr leisten die oben erwähnten Färbungsmethoden (C. Spengler, Kronberger, v. Betegh) wohl noch besseres.

Weit wichtiger als diese Strukturdarstellung scheint eine andere Eigenschaft zu sein, die Gasis seiner Methode nachrühmt, nämlich die der sicheren Differenzierung von Tuberkelbazillen gegen andere säurenfeste, nicht pathogene Bakterien, von denen die Smegmabazillen wohl praktisch am meisten in Betracht kommen. Zu ihrer sicheren Differenzierung sind schon sehr zahlreiche Färbemethoden angegeben worden. Aber schon ihre große Anzahl beweist, daß sie mehr oder weniger unbefriedigende Resultate ergaben. Sie beruhen alle auf der Annahme, daß Smegmabazillen eine geringere Resistenz gegen Entfärbung mit Säuren resp. Alkohol zeigen.

So empfiehlt B. Fränkel zur Entfärbung und gleichzeitigen Nachfärbung Methylenblau in Salpetersäure und 50% Alkohol, Honsell glaubt mit Salzsäure-Alkohol (3 ccm Salzsäure auf 100 ccm Alkoh. absol.) eine sichere Entfärbung der Smegmabazillen herbeizuführen. Andere Autoren wiederum meinen, daß der Alkohol ohne Säurezusatz besser entfärbe. Hierher gehören die Verfahren von Bunge und Trautenroth sowie von Weichselbaum; Günther dagegen bestreitet die entfärbende Wirkung des absoluten Alkohols auf die Smegmabazillen. Auch organische Säuren wurden als Entfärbungsmittel herangezogen, so der Eisessig (Alvares und Tavel) Milchsäure, sowie Zitronen-, Wein-, Pikrinsäure (Hauser, Tarchetti). Damit ist die Aufzählung der zahlreichen Differenzialfärbungsmethoden noch lange nicht erschöpft. Es sei nur noch die

Korallinmethode von Pappenheim erwähnt, die, soweit sich aus der Literatur ersehen läßt, noch relativ am meisten Anklang gefunden hat. Aber auch diese Methode hat mitunter versagt. So berichtet Lydia Rabinowitsch über einen Fall von Lungengangrän, bei dem im Sputum sich säurefeste Stäbchen fanden, die sich der Pappenheimschen Färbung gegenüber resistent verhielten. Sie konnten durch Kultur und Tierversuch in die Gruppe der Buttersäurebazillen eingereiht werden. Auch andere Autoren berichten von säurefesten, nicht pathogenen Bazillen, die eventuell zu Fehldiagnosen Veranlassung geben können. Lubarsch fand solche Bakterien in bronchitischen Sputis, bei denen Tuberkulose durch Tierversuch ausgeschaltet werden konnte. Schließlich sei noch erwähnt, daß Beitzke Tuberkelbazillen sehr ähnliche, säurefeste Stäbchen im Leitungswssser fand.

Verfasser hat versucht, auch über diese Seite der Gasis'schen Färbemethode sich ein Urteil zu bilden. Zu diesem Zweck wurden von aus dem Präputialsack stammenden Smegmabazillen einer Reihe von Personen Ausstriche gemacht und teils nach Ziehl, teils nach Gasis gefärbt. Wenn man zur Entfärbung den Alkohol fortließ, zeigten sich stets feine, ganz gerade, rot gefärbte Stäbchen in ziemlich großer Anzahl. Aber auch bei der regulären Ziehl-Färbung mit Alkoholdifferenzierung fanden sich zwar nicht so viele, aber doch noch vereinzelte nicht entfärbte Bazillen. Andererseits konnten in den nach Gasis gefärbten Präparaten niemals rot gefärbte Stäbchen nachgewiesen werden. Voraussetzung ist allerdings ein dünner Ausstrich des Materials. Bei absichtlich dicker ausgestrichenen Präparaten erschienen die Bazillen bläulich-rot, also nicht einwandfrei entfärbt. Diesen Fehler zu vermeiden, hat man ja aber in der Hand.

Ferner wurden in zwei Urinproben, die zur Untersuchung auf Tuberkelbazillen eingesandt wurden, bei Ziehlfärbung vereinzelte rote Stäbchen gefunden, und zwar in jedem der sehr zahlreich angefertigten Präparate, während nach Gasis niemals solche gefunden wurden.

Da wir einerseits sahen, daß überall da nach Gasis Tuberkelbazillen nachweisbar waren, wo auch die Ziehl-färbung positiv ausfiel, da andererseits in den Smegma-präparaten, die nach Gasis gefärbt waren, niemals rote Stäbchen gefunden wurden, so spricht wohl ein hoher Grad von Wahrscheinlichkeit dafür, daß es sich in diesen Fällen um Smegmabazillen gehandelt hat. Da die Frage jedoch nicht durch Tierversuch entschieden werden konnte, möchte ich diesen Befund indeß nicht für absolut beweisend gegen die Diagnose Tuberkulose halten, zumal die Anzahl der untersuchten Urine nur gering war.

Zusammenfassend ergibt sich also aus diesen Untersuchungen folgendes:

1. Die Gasis'sche Färbemethode für Tuberkelbazillen ist, wenigstens in ihrer neueren Modifikation nicht zeitraubender und umständlicher wie die alte Ziehl-Färbung.

2. Sie weist überall da Tuberkelbazillen nach, wo auch nach Ziehl solche zu sehen sind, d. h. sie ist spezifisch für Tuberkelbazillen, die also nicht nur säure-, sondern auch alkalifest sind.

3. Sie gibt klare, übersichtliche Bilder, eignet sich auch zu Studien über die Strukturen der Bazillen, übertrifft aber hierin nicht die schon früher angegebenen Strukturfärbungen.

4. Sie entfärbt Smegmabazillen, ist daher überall da der Ziehlfärbung vorzuziehen, wo diese Bakterien differenzialdiagnostisch in Betracht kommen, so vor allem bei Urinuntersuchungen.

* * *

Zum Schluß meiner Arbeit ist es mir ein Bedürfnis, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. B. Fischer, meinem verehrten früheren Lehrer und Chef, für die gütige Überlassung der Arbeit, sowie die liebenswürdige Unterstützung dabei, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. v. Behring: Über Lungenschwindsuchtsentstehung und Tuberkulosebekämpfung (Deutsche med. Wochenschrift 1903, No. 39).

2. Eber: Die Umwandlung vom Menschen stammender Tuberkelbazillen des typ. humanus in solche des typ. bovinus. Münchener Med. Wochenschrift 1910, No. 3.

3. Derselbe: Weitere experimentelle Beweise für die nahe Verwandtschaft der beim Menschen und beim Rind vorkommenden Tuberkelbazillen und die Möglichkeit einer Umwandlung menschlicher Tuberkelbazillen (typ. humanus) in rindervirulente Formen (typ. bovin.). Münch. med. Wochenschr. 1909, S. 2215.

4. R. Koch: Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1884, Bd. II.

5. C. Spengler: Zur Bronchialdrüsentuberkulose der Kinder. Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. 13.

6. A. Weber: Welche Gefahr droht dem Menschen durch den Genuß von Milch und Milchprodukten euter-tuberkulöser Kühe? Tuberkulosearbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt H. 10.

7. Kossel, Weber und Heuß: Vergl. Untersuchungen über Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft. Tuberkulosearbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt 1904.

8. Bonome: Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Tuberkulose und zur Differenzierung zwischen Menschen- und Rindertuberkulose. Centralbl. f. Bakt. etc. I. Orig. Bd. 43, 1907, Heft 4.

9. R. Trommsdorff: Über intravenöse Impfungen mit Menschen- und Rindertuberkelbazillen bei Mäusen. Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt Bd. 32, Heft 2.

10. Straus: Ia tuberkulose et son bacille. Paris 1895.

11. Fränkel und Baumann: Untersuchungen über die Infektiosität verschiedener Kulturen des Tuberkelbazillus. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. Bd. 54, 1906.

12. Römer: Beiträge zur experimentellen Therapie, 1903, Heft 6.

13. Yamada: Über die pathogene Wirkung der Tuberkelbazillen auf die Ratte und die Maus. Mitteilg. der med. Gesellsch. zu Osaka 1910, Bd. 9, referiert im Centralbl. f. Bakt. Bd. 49, H. 15/16.

14. Weber: Tuberkulosearbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, Heft 6.

15. Möllers: Zur Frage der Tuberkuloseinfektion des Menschen durch Perlsuchtbazillen. Deutsche med. Wochenschr. 1910, No. 5.

16. Ehrlich: Sitzung des Vereins f. innere Medizin zu Berlin vom 1. Mai 1882. Deutsche med. Wochenschr. 1882, p. 269.

17. Ziehl: Zur Färbung der Tuberkelbazillen Ibd. p. 451.

18. Fränkel, B.: Über die Färbung des Kochschen Bazillus und seine semiotische Bedeutung f. d. Krankh. der Respirationsorgane. Berl. klin. Wochenschr. 1884, p. 194 u. 214.

19. Neelsen in dem Artikel von Johne: Ein zweifelloser Fall von kongenitaler Tuberkulose. Fortschritte der Medizin 1882, p. 200 Anmerkg.

20. Nastinkow u. Pewsner: Über die Färbung der Tuberkelbazillen in Sublimatlösungen von Anilinfarben. Wratsch 1903, Ref. im Centralblatt für Bakt. etc. I. Ref. Band. 14.

21. Ogawa: Über die Färbemethoden der Tuberkel- und Leprabazillen. Mitteil. der med. Gesellsch. in Tokio, Bd. 17, No. 22. Ref. im Centralbl. für Bakt. I. Ref. Bd. 36.

22. Andreyew: Rasche Entfärbung von tuberkulösen Sputis. Centralbl. für Bakt. Orig.-Bd. 22.

23. Rondelli & Buscalioni: Über eine neue Färbemethode der Tuberkelbazillen. Centralbl. f. Bakt. Orig.-Bd. 21.

24. Peltrisot: Observations pratiques sur la recherche du bacille tuberculeux dans les crachats. Referiert im Centralbl. für Bakt. I. Ref. Bd. 36.

25. A. Müller: Über Tuberkelbazillen und Sporenfärbung. Centralbl. f. Bakt. I. Orig.-Bd. 29.

26. C. Spengler: Neue Färbemethoden für Tuberkel- und Perlsuchtbazillen und deren Differenzialdiagnose. Deutsche med. Woch. 1907, No. 9.

27. Tarchetti: Per la richercha dei bacilli tubercolari. Referiert im Centralbl. f. Bakt. I. Ref. Bd. 35.

28. v. Betegh: Neue differenzialdiagnostische Färbemethode für Tuberkel- und Perlsucht- und andere säurefeste Bazillen nebst Strukturstudien bei verschiedenen säurefesten Bakterienarten. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig.-B. 47.

29. Derselbe: Über eine neue Methode zur Darstellung der Tuberkelbazillensporen. Ibd. Bd. 49.

30. Derselbe: Ueber eine neue Methode der Sporen- und Strukturfärbung der säurefesten Bakterien. Ibd. Bd. 52.

31. Kronberger: Eine neue einfache Strukturfärbung für die echten säurefesten, speziell für die Tuberkuloseerreger. Brauers Beiträge. Bd. 16.

32. Much: Über die nicht säurefesten Formen des Kochschen Tuberkelbazillus. Ibd. Bd. 8.

33. Derselbe: Die nach Ziehl nicht darstellbaren Formen des Tuberkelbazillus. Berliner klin. Wochenschr. 1908, No. 14.

34. Liebermeister: Über die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbazillus. Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 28.

35. Aronson: Über einige strittige Punkte in der Biologie des Tuberkelbazillus. Berliner klin. Wochenschr. 1910, No. 44.

36. Weiß: Zur Morphologie des Tuberkulosevirus unter besonderer Berücksichtigung einer Doppelfärbung. Ibd. 1909.

37. Hatano: Über kombinierte Färbemethoden für Tuberkelbazillen. Ibd. 1909.

38. Gasis, D.: Über eine neue Reaktion der Tuberkelbazillen und eine darauf begründete differenzialdiagnostische Färbungsmethode derselben. Centralbl. f. Bakt. Bd. 50.

39. Derselbe: Ein weiterer Beitrag zu meiner neuen Differenzialfärbungsmethode der Tuberkelbazillen. Berl. klin. Wochenschr. 1909.

40. Derselbe: Weitere Erfahrungen über meine Methode der Tuberkelbazillenfärbung. Ibd. 1910.

41. Honsell: Über Differenzialfärbung zwischen Tuberkelbazillen und Bazillen des Smegmas. Arbeiten aus dem pathol. Institut zu Tübingen. 1896. Bd. 2.

42. Bunge und Trautenroth: Smegma- und Tuberkelbazillen. Fortschritte der Medizin. 1896. Bd. 14.

43. Alvarez und Tavel: Archiv de physiologie nom. et pathol. 1885.

44. Pappenheim: Befund von Smegmabazillen im menschlichen Lungenauswurf. Berl. klinische Wochenschrift 1898.

45. L. Rabinowitsch: Befund von säurefesten, Tuberkelbazillen ähnlichen Bakterien bei Lungengangrän. Deutsche med. Wochenschr. 1900.

46. Lubarsch: Deutsche Ärztezeitung. 1901, Heft 20.

47. Günther: Einführung in das Studium der Bakteriologie.

48. Pappenheim: Grundriß der Farbchemie.

49. G. Schuster: Inwiefern genügt die mikroskopische Untersuchung auf Tuberkelbazillen mit den neueren Färbemethoden zur Diagnose Tuberkulose der Harnwege? Deutsche med. Wochenschr. 1910.

50. Beitzke: Säurefeste, Tuberkelbazillen sehr ähnliche Stäbchen. Deutsche med. Wochenschr. 1910.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Ernst Nikolaus Alexander Peters, am 24. März 1886 zu Davos-Platz (Schweiz), als Sohn des Kgl. Preuß. Sanitätsrates Dr. Oswald Peters, und evangelisch getauft. Ich besuchte das dortige Schulsanatorium Fridericianum und bestand im Juni 1904 die Gymnasialreifeprüfung zu Wertheim (Baden). Darauf studierte ich in Heidelberg, Zürich und Kiel. 1907 bestand ich in Kiel die ärztliche Vorprüfung, 1909 das Staatsexamen. Darauf absolvierte ich die erste Hälfte meines praktischen Jahres am hiesigen hygienischen Institut (Geh. Med.-Rat Prof. Dr. B. Fischer) von April bis Oktober 1910, diente sodann im Winter 1910/11 als Einjährig-Freiwilliger im Infanterie-Regiment 113 in Freiburg i. B. Die zweite Hälfte meines praktischen Jahres verbrachte ich von April bis Oktober 1911 am allgemeinen Krankenhaus Hamburg-Eppendorf (Prof. Dr. Brauer).